

УДК 576.895.122

УЛЬТРАСТРУКТУРА ХВОСТОВОГО ПРИДАТКА МИКРОФАЛЛИДНЫХ ЦЕРКАРИЙ (TREMATODA, MICROPHALLIDAE)

И. И. Малкова

Строение хвоста личинок *Maritrema subdolum* Jagerskiöld, 1909 и *Microphallus claviformes* (Brandes, 1888) (сем. Microphallidae Travassos, 1920) принципиально сходно. Его стенка образована безъядерной синцитиальной тегументальной пластинкой и подлежащими слоями мышц: внешний слагают гладкомышечные клетки, внутренний — продольные поперечно-полосатые мышечные волокна. Осевую часть хвоста, за исключением центральной полости, занимают ядросодержащие цитоны мышечных клеток. Функциональное объединение мускулатуры хвоста и тела обеспечивают толстые мышечные пучки, локализующиеся в каудальном отделе тела личинки.

Среди многочисленных работ, посвященных тонкой организации трематод, насчитываются единичные исследования, в которых приводится описание ультраструктуры хвостового придатка церкарий. У трематод сем. Microphallidae морфологию этого органа никто не изучал. Ниже мы рассматриваем ультраструктуру хвоста микрофаллидных церкарий на примере двух видов — *Maritrema subdolum* и *Microphallus claviformes*, принадлежащих подсем. Maritreminae Lal, 1939 и Microphallinae Ward, 1901.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Моллюски *Hydrobia ulvae*, зараженные партенитами микрофаллид, были собраны летом 1986 г. в Онежском заливе Белого моря. Спороцист, содержащих зрелые церкарии обоих видов, вырезали вместе с окружающей тканью из висцерального мешка моллюска и фиксировали 3 %-ным раствором глутарового альдегида в течение 1—2 ч при комнатной температуре. Затем следовали промывка в двух порциях 0.2 М фосфатного буфера (pH 7.4), дофиксация 1—2 ч 1 %-ным водным раствором тетраоксида осмия и снова промывка в буфере. Осмолярность всех рабочих растворов доводилась примерно до 760 мОсМ добавлением сахарозы. После обезвоживания в спиртах и ацетоне материал заливали в аралдит. Срезы изготавливали на ультратоме LKB-III. Полутонкие срезы для светооптического изучения окрашивали толуидиновым синим. Для электронно-микроскопического исследования срезы окрашивали последовательно насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца по Рейнольдсу. Просмотр срезов велся на электронном микроскопе JEM-100 В.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Строение хвоста церкарий обоих видов оказалось сходным. У вполне сформированных личинок, находящихся внутри дочерних спороцист, он имеет коническую форму и постепенно сужается по направлению к закругленному дистальному концу. Проксимальный отдел окружает складка каудального участка тела

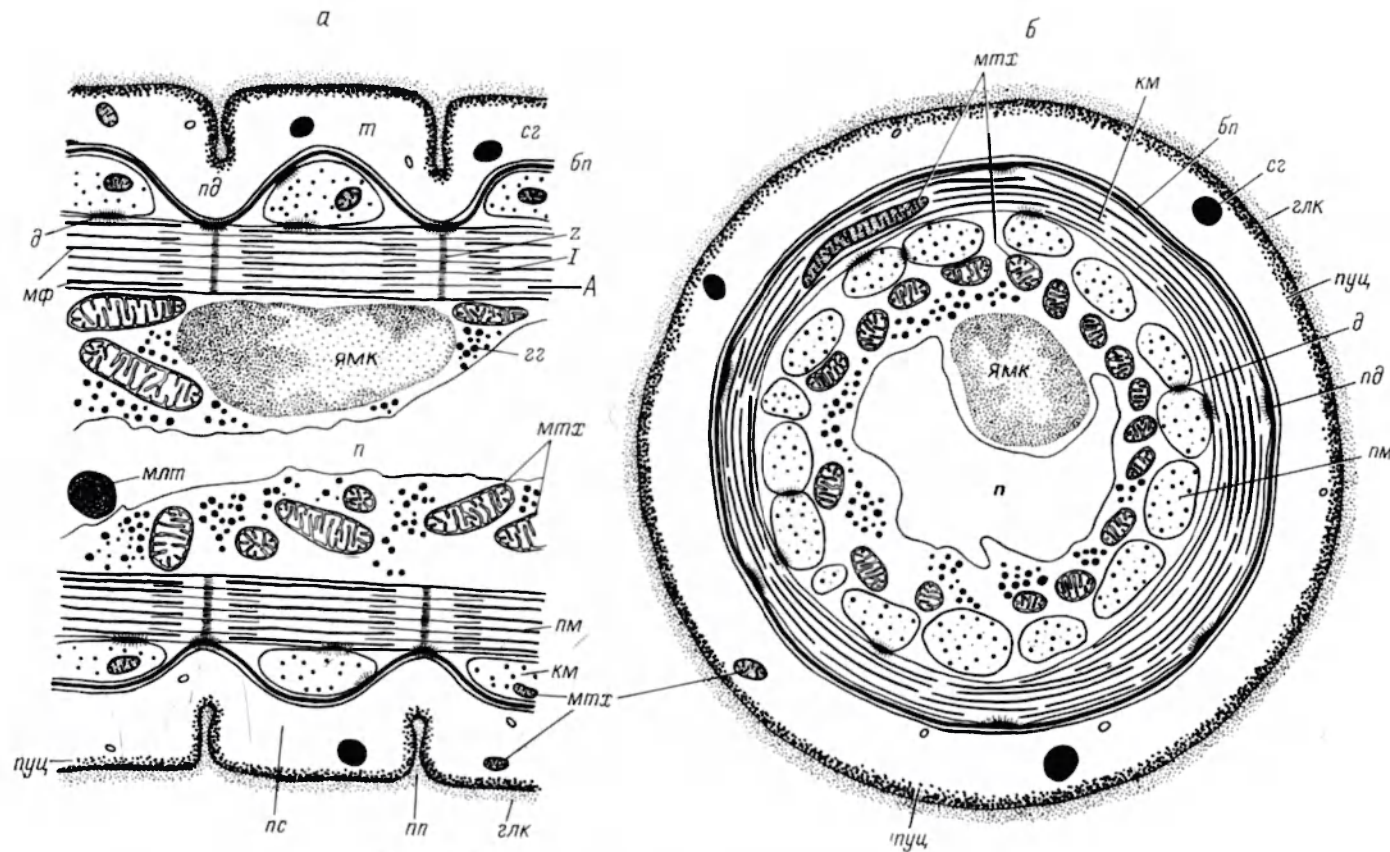


Рис. 1. Схема строения хвоста микрофаллидных церкарий.

а — продольный срез в средней части; б — поперечный срез в средней части; бп — базальная пластинка; гс — гранулы гликогена; глк — гликокаликс; д — десмосомы; км — кольцевая мускулатура; млт — мультиламеллярное тело; мтх — митохондрии; МФ — миофиламенты; п — полость; пд — полудесмосомы; пм — продольная мускулатура; пп — поперечная перегородка; пс — поперечная складка; пуц — поверхностное уплотнение цитоплазмы; сг — секреторные гранулы; т — тегумент; яМК — ядро мышечной клетки, Z—Z — диск саркомера, I—I — зона саркомера, А—А — зона саркомера.

церкарии. В состав хвоста входят два типа тканей: тегумент и мышцы. Синцитиальная пластинка тегумента складчатая и образует по всей длине хвоста регулярно повторяющиеся кольцевые перетяжки (рис. 1, *а*). С наружной плазматической мембраной синцития ассоциирует гликокаликс, с внутренней стороны к ней прилегает тонкий слой уплотненной цитоплазмы. Остальная цитоплазма средней электронной плотности и содержит немногочисленные свободные рибосомы и мелкие митохондрии, небольшие электронноплотные овальные гранулы, по-видимому, секреторной природы, и пузырьки неясного функционального назначения. Шипы отсутствуют. Ядросодержащие цитоны тегумента у зрелых церкарий не выявляются. Базальная пластинка имеет волокнистую структуру и повторяет все изгибы внутренней плазматической мембраны синцитиального слоя.

Мускулатура хвоста представлена наружным слоем кольцевых и внутренним слоем продольных мышц (рис. 1, *а, б*; 2, *а*; см. вкл.). Гладкие мышечные клетки, составляющие первый из перечисленных слоев, располагаются в районе складок тегумента. Они подстилают здесь базальную пластинку и контактируют с ней при помощи полудесмосом (рис. 2, *б*). В местах плотного прилегания соседних мышечных клеток наблюдаются десмосомы. Ядра в клетках кольцевой мускулатуры хвоста зрелой церкарии не выявляются. В саркоплазме обнаруживаются миофиламенты и плотные тела, характерно наличие вытянутых овальных митохондрий с электронноплотным матриксом и немногочисленными кристами. Продольные мышечные волокна имеют поперечно-полосатую исчерченность. Они состоят из отдельных мышечных клеток, каждая из которых отчетливо подразделяется на две части: веретеновидную сократимую и клеточное тело с ядром. Сократимые части несут миофибриллы, обнаруживающие саркомерную организацию. Отчетливо прослеживаются тонкие и толстые миофиламенты, А- и I-зоны, а также уплотнения, напоминающие Z-диски (рис. 2, *в*). Расположение последних совпадает с перетяжками синцитиального слоя покровов. В этих местах продольные мышечные волокна образуют контакты по типу полудесмосом с базальной пластинкой тегумента. С клетками кольцевых мышц они соединяются при помощи десмосом. Ядросодержащие клеточные тела поперечно-полосатых мышц заполняют всю осевую часть хвоста за исключением центральной полости. Ядра крупные, овальные, с 1—2 ядрышками и светлой нуклеоплазмой. По периферии ядра отмечаются скопления гетерохроматина. Цитоплазма средней электронной плотности с многочисленными свободными рибосомами, мелкими темными гранулами (по-видимому, гликоген) и большим количеством крупных митохондрий самой разнообразной формы. Последние у полностью сформированных церкарий имеют пластинчатые кристы и электронно-светлый матрикс, что указывает на их активное функциональное состояние. Многие митохондрии тесно прилежат к миофибриллам. Особенно велико их число в цитоплазме мышечных клеток проксимального отдела хвоста.

Центральная часть хвоста на всем его протяжении представлена разветвленной полостью. Она заполнена электронно-светлой субстанцией (очевидно, жидкостью), в которой обнаруживаются тонкие волокна и мелкие мультילамеллярные тела (рис. 2, *г*).

Четкая зональность во взаиморасположении тегумента, кольцевых и продольных мышц, центральной полости сохраняется по всей длине хвостового придатка. Строение же проксимального и дистального отделов несколько различается. У основания хвоста центральная полость отсутствует. Ее место занимают тела мышечных клеток с ядрами и узким ободком цитоплазмы вокруг них (рис. 2, *д*). Продольные мышечные волокна располагаются равномерно по окружности и отстоят друг от друга на сравнительно большое расстояние. На дистальном конце они настолько сближены, что фактически формируют кольцо. На всех исследованных поперечных срезах хвостового придатка количество миофибрилл продольной мускулатуры не превышало 20. Если сопоста-

вить этот факт с наличием большого числа ядер в центральной части хвоста развивающейся церкарии, то вполне обоснованным представляется вывод, что каждый продольный тяж образован несколькими последовательно расположенными клетками, сократимые части которых прилежат друг к другу своими концами.

Функциональное объединение мускулатуры хвоста и тела обеспечивают особые мышцы-связки, представляющие собой толстые мышечные пучки, локализующиеся в каудальном отделе тела личинки (рис. 2, *е*). Здесь они соединяются с продольной мускулатурой кожно-мышечного мешка при помощи плотных тел, напоминающих Z-диски. Мышечные пучки входят в основание хвоста, где разделяются на две ветви. Более толстая примыкает к волокнам поперечно-полосатой мускулатуры, а более тонкая — к клеткам слоя гладких мышц. В местах контакта мышечных волокон наблюдаются плотные тела, напоминающие Z-диски. Природа гладких мышц, которые формируют в основании хвоста слой, перпендикулярный оси этого органа, не выяснена. Возможно, они представляют собой изменившие ориентацию волокна кольцевой мускулатуры.

Формирование хвоста в ходе морфогенеза церкарии прослежено в основном на светооптическом уровне. На стадии хвостовой почки зачаток состоит из однородных клеток с пузырьковидными ядрами, содержащими 1—2 ядрышка и окруженными тонким слоем светлой цитоплазмы. Наружная пластинка тегумента и мышечные волокна не выявляются. По мере развития зачаток вытягивается в длину. На его поверхности становится различимой тонкая безъядерная пластинка покровов, не образующая еще поперечных складок. Под ней обнаруживаются формирующиеся мышечные волокна; продольные мышцы незначительной толщины и не имеют выраженной поперечной исчерченности. На этой стадии морфогенеза начинаются процессы пикнотической дегенерации клеток срединной части хвоста. Их цитоплазма интенсивно прокрашивается толуидиновым синим, ядра приобретают угловатую форму и из них исчезают ядрышки. На месте дегенерировавших клеток возникают полости, которые впоследствии сливаются в единую разветвленную центральную полость. Первоначально, по-видимому, резорбции подвергаются закончившие свой секреторный цикл цитоны субтегументальных желез и излишний клеточный материал, накопленный при развитии хвостового зачатка. Однако основной объем центральной полости образуется за счет частичной дегенерации ядросодержащих клеточных тел поперечно-полосатых мышц. Этот процесс отчетливо прослеживается на электронограммах (рис. 2, *г*). Саркоплазма в некоторых участках клетки вакуолизируется, утрачивает свою гомогенность и становится электронно-светлой. В ней появляется волокнистая сеть из более плотного материала и многочисленные мультиламеллярные тела. Ядра значительно уменьшаются в размерах, округляются и приобретают чрезвычайно высокую электронную плотность. Вокруг них формируются полости, в которых обнаруживаются мультиламеллярные тела. Дегенерация ядросодержащих участков клеток поперечно-полосатой мускулатуры продолжает осуществляться и у вполне сформированных церкарий. Даже у личинок, покинувших спороцисту, в хвосте обнаруживаются пикнотические ядра. Остальные ядра, выявляющиеся в хвосте таких церкарий, а к этому времени ядра остаются только в клетках продольных мышц, интенсивно прокрашиваются толуидиновым синим и явно находятся в неактивном состоянии. Что же касается ядер в клетках гладких кольцевых мышц, то они дегенерируют значительно раньше, так как на конечных стадиях морфогенеза хвоста не наблюдаются.

ОБСУЖДЕНИЕ

Хвост микрофаллидных церкарий предназначен для выполнения одной функции — локомоторной. Это и определяет специализацию его кожно-мышечного мешка, резко отличающегося по строению от аналогичной структуры тела личинки. Наружная пластинка тегумента тела церкарий *Microphallus claviformes* и *Maritrema subdolum* более толстая, чем в хвосте, и в ней выявлены по крайней мере три типа секреторных гранул, продуцируемых субтегументальными железистыми клетками (Малкова, 1987). У первой формы обнаруживаются шипы, а у второй поверхность тегумента образует языковидные выросты с опорным каркасом из микротрубочек. Специфичным для покровов хвоста оказывается наличие ясно выраженного гликокаликса, электронноплотного слоя цитоплазмы, подстилающего наружную плазматическую мембрану и кольцевой складчатости. Слой кольцевых мышц в теле церкарий толще, чем в хвосте, волокна продольной мускулатуры лишены поперечной исчерченности.

Анализ морфологической организации хвоста позволяет высказать предположения относительно механизмов, обеспечивающих его локомоторную функцию. Важное значение имеет кольцевая складчатость тегумента, соединение его базальной пластинки в районе перетяжек с продольными мышечными волокнами и приуроченность к этим местам дисков поперечно-исчерченных миофибрилл. Такая жесткая конструкция делает возможным функционирование стенки хвоста как единого целого и в то же время не препятствует работе продольной мускулатуры. При сокращении и соответственно укорочении саркомеров происходит увеличение толщины поперечных складок тегумента (рис. 2, б, г), при расслаблении, наоборот, складки расправляются (рис. 2, в, д). Сокращение продольных мышечных волокон на какой-либо стороне хвоста приводит к его изгибанию. Кольцевые мышцы хвостового придатка, вероятно, выполняют опорную функцию. Жидкость, наполняющая центральную полость хвоста, скорее всего, играет роль гидроскелета.

Работы, посвященные описанию строения хвостовых придатков церкарий разных систематических групп трематод, немногочисленны (Гинецинская, 1968; Галактионов, Добровольский, 1987). У всех изученных к настоящему времени личинок организация кожно-мышечного мешка хвоста сходна и принципиально не отличается от обнаруженной нами у церкарий микрофаллид: синцитиальную пластинку тегумента подстилает слой кольцевых гладких мышц, под которым располагаются поперечно-полосатые продольные мышечные волокна. Последние у церкарий *Neodiplostomum intermedium* (Pearson, 1961), *Himasthla secunda* (Chapman, 1973) и *Cryptocotyle lingua* (Chapman, 1973; Rees, 1977) сгруппированы в 4 пучка (2 дорсолатеральных и 2 вентролатеральных), тянущихся от основания хвоста до его дистального конца. У личинок циатокотилид и шистосоматид поперечно-полосатые мышечные волокна лежат диагонально под углом к продольной оси хвоста (Гинецинская, 1968), а у церкарий *Himasthla quissetensis* (Cardell e. a., 1960) спирально закручиваются вдоль нее. Равномерное распределение волокон продольной мускулатуры по окружности хвоста описано у церкарий *Plagiorchis laricola* (Zdarska, 1969). В отличие от исследованных нами личинок микрофаллид они представлены у этой формы гладкими мышечными клетками. Следует учесть, что работа Ждарской (Zdarska, 1969) выполнена на светооптическом уровне и поперечная исчерченность миофибрилл могла остаться незамеченной.

Дегенерация подавляющего большинства ядер мышечных клеток в ходе развития хвоста присуща трематодам сем. Heterophyidae, Echinostomatidae, Parorchhiidae, Plagiorchiidae (Chapman, 1973; Rees, 1971, 1977; Герасев, Добровольский, 1977, и др.). Это явление вполне объяснимо, если принять во внимание краткость периода, в течение которого хвост функционирует как локомоторный орган. Видимо, к моменту выхода церкарии из спороцисты в мышечных клетках

образуются митохондрии и накапливаются гликоген и ферменты, в частности сукцинатдегидрогеназа, в количествах, достаточных для активной работы (Гинецинская, 1968; Гинецинская, Хари, 1975; Хари, 1975).

В отличие от стенок строение внутренней области хвоста варьирует у представителей разных семейств трематод. По данным Ждарской (Zdarska, 1969), в центральной части хвоста церкарий *Plagiorchis laricola* располагаются особые опорные клетки, соединяющие дорсальную поверхность этого органа с вентральной и разделяющие его внутреннюю полость наподобие перегородок. Приведенные в этой работе морфологические описания опорных элементов очень напоминают картины дегенерации ядросодержащих клеточных тел продольных мышц, которые нам удавалось наблюдать при светооптическом изучении полутонких срезов хвоста церкарий *Microphallus claviformes* и *Maritrema subdolum*. По-видимому, в хвосте личинок *P. laricola* формируется центральная полость, сходная по происхождению с аналогичной структурой у исследованных нами микрофаллид. У церкарий *Parorchis acanthus* центральную часть хвоста занимает полость, заполненная межклеточной жидкостью, в которой располагается сеть опорных элементов (Rees, 1971). По мнению автора, она образуется в результате частичной дегенерации мышечных клеток. У остальных изученных к настоящему времени церкарий центральную область хвоста занимают тела мышечных клеток (Cardell e. a., 1960; Chapman, 1973; Rees, 1977, и др.).

Л и т е р а т у р а

- Галактионов К. В., Добровольский А. А. Гермафродитное поколение трематод. Л.: Наука. 1987. 192 с.
- Герасев П. И., Добровольский А. А. Развитие гермафродитного поколения *Astiotrema trituri* (Trematoda, Plagiorchiidae) // Паразитол. сб. ЗИН АН СССР. Л., 1977. № 27. С. 89—111.
- Гинецинская Т. А. Трематоды, их жизненные циклы, биология и эволюция. Л.: Наука. 1968. 411 с.
- Гинецинская Т. А., Хари Б. И. Локализация фермента сукцинатдегидрогеназы и запасных питательных веществ в теле партенит и личинок трематод // Экологическая и экспериментальная паразитология. Вып. 1. Л. Изд-во ЛГУ. 1975. С. 108—124.
- Малкова И. И. Электронно-микроскопическое исследование покровов церкарий трематод семейства Microphallidae // Тез. докл. 4-го симпоз. по паразитол. и патол. морских организмов. Калининград. 1987. С. 32—34.
- Хари Б. И. Сукцинатдегидрогеназа и запасные питательные вещества на разных этапах жизненного цикла *Harplometra cylindracea* Zeder, 1800 (Plagiorchioidea) // Экологическая и экспериментальная паразитология. Вып. 1. Л. Изд-во ЛГУ. 1975. С. 114—132.
- Cardell R. R., Philpott J. E., Philpott D. E. The ultrastructure of the tail of the cercaria of *Himastha quissetensis* (Miller and Northup, 1926) // Trans. Amer. Microscop. Soc. 1960. Vol. 79. N 3. P. 442—450.
- Chapman A. D. The functional organization and fine structure of the tail musculature of the cercariae of *Cryptocotyle lingua* and *Himastha secunda* // Parasitology. 1973. Vol. 66. Pt. 3. P. 487—497.
- Pearson J. C. Observations on the morphology and life cycle of *Neodiplostomum intermedium* (Trematoda, Diplostomatidae) // Parasitology. 1961. Vol. 51. N 122. P. 133—172.
- Rees G. F. Locomotion of the cercaria of *Parorchis acanthus*, Nicoll, and the ultrastructure of the tail // Parasitology. 1971. Vol. 62. Pt. 3. P. 489—503.
- Rees G. F. The development of the tail and the excretory system in the cercaria of *Cryptocotyle lingua* (Creplin) (Digenea: Heterophyidae) from *Littorina littorea* (L.) // Proc. Roy. Soc. London. 1977. Vol. B 195, N 1121. P. 425—452.
- Zdarska Z. The gland cells in the tail of cercariae // Folia parasitol. 1969. Vol. 16. N 1. P. 111—120.

Мурманский морской
биологический институт

Поступила 27.05.1987

ULTRASTRUCTURE OF THE TAIL OF MICROPHALLID CERCARIAE
(TREMATODA, MICROPHALLIDAE)

I. I. Malkova

S U M M A R Y

The tail structure of larvae of *Maritrema subdolum* and *Microphallus claviformes* is similar in essence. Its wall is made by the tegument and underlying layers of muscles. The syncitial anucleated tegumental lamina with the only type of secretory inclusions forms regular circular folds along the tail. The outer muscle layer is formed by the smooth muscular cells. It is underlyed by the longitudinal cross-striated muscles with the strongly pronounced sarcomer organization. The nucleus-containing bodies of the muscle cells occupy the axial part of the tail excepting the central cavity. The functional joining of tail and body musculatures is provided by thick muscle bundles in the caudal department of the larval body.

Вклейка к статье И. И. Малковой

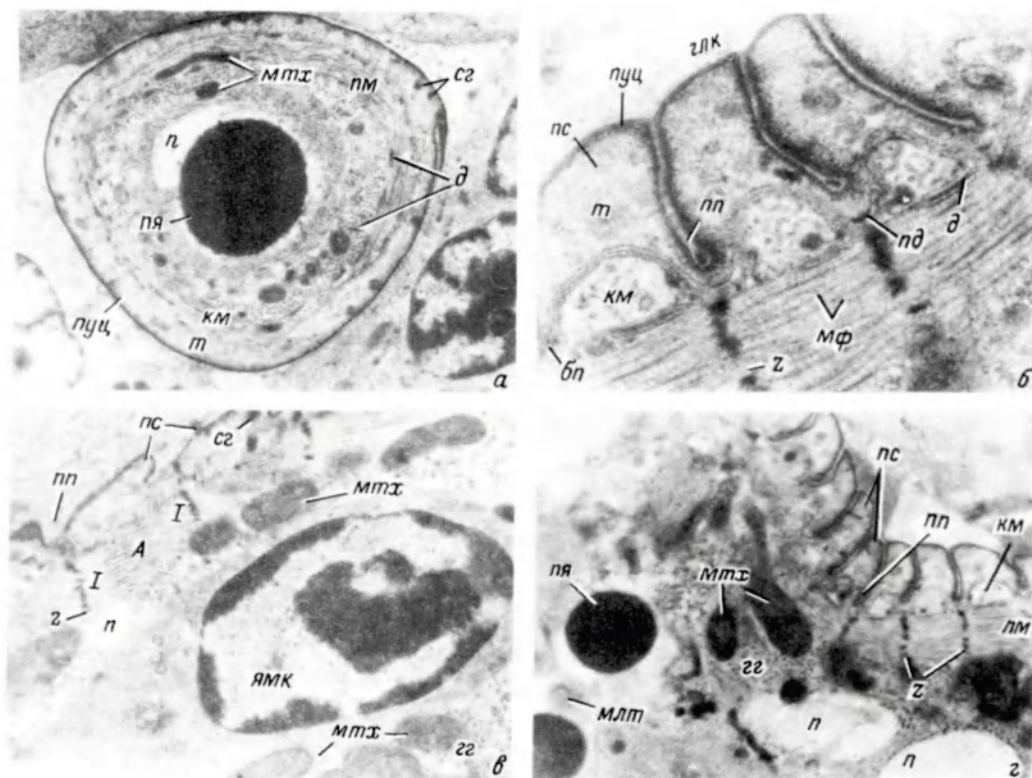
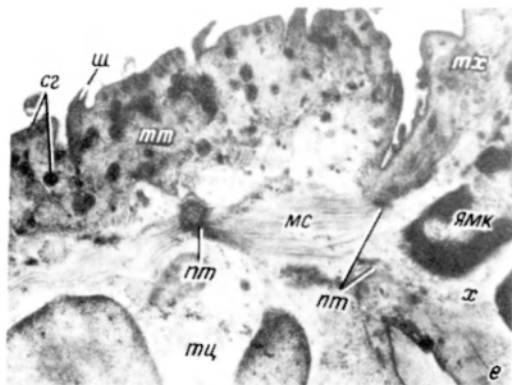


Рис. 2. Строение хвоста микрофаллидных церкарий.

a — поперечный срез средней части хвоста церкарии *Microphallus claviformes* ($\times 20\,000$), ТЭМ; *б* — продольный срез хвоста церкарии *Maritrema subdolum* ($\times 45\,000$), ТЭМ; *в* — продольный срез проксимальной части хвоста церкарии *Microphallus claviformes* ($\times 26\,400$), ТЭМ; *г* — продольный срез средней части хвоста церкарии *M. claviformes* ($\times 16\,000$), ТЭМ; *п*я — пикнотические ядра;

This electron micrograph shows two oocytes in the process of development. The oocyte on the left contains a large, dark, electron-dense nucleus labeled 'ЯМК' (nucleolus) and a surrounding lighter region labeled 'мтх' (mitochondria). The oocyte on the right also shows a 'ЯМК' and a 'КМ' (cristae) structure. Labels 'п' (plasma membrane) and 'пд' (perinuclear space) are visible. A scale bar 'а' is present in the bottom right corner.



d — продольный срез проксимальной части хвоста церкарии *M. claviformes* ($\times 21\,677$), ТЭМ; *e* — продольный срез в месте соединения хвоста с телом церкарии *M. claviformes* ($\times 12\,000$), ТЭМ; *mc* — мышцы «связки»; *pt* — плотные тела; *tt* — тегумент тела; *tc* — тело церкарии; *tx* — тегумент хвоста; *x* — хвост; *sh* — шип. Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.